

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許出願公告番号

特公平6-64054

(24)(44)公告日 平成6年(1994)8月22日

(51)IntCl.<sup>5</sup>

G 0 1 N 33/49

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

Z 7055-2 J

発明の数1(全10頁)

(21)出願番号 特願昭56-121959

(22)出願日 昭和56年(1981)8月5日

(65)公開番号 特開昭57-53661

(43)公開日 昭和57年(1982)3月30日

(31)優先権主張番号 P 3 0 2 9 5 7 9 . 5

(32)優先日 1980年8月5日

(33)優先権主張国 西ドイツ(DE)

審判番号 平1-6393

(71)出願人 999999999

ペーリンガー・マンハイム・ゲゼルシャフ  
ト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツ  
ンドイツ連邦共和国マンハイム・ヴァルトホ  
ーフ・ザントホーフエル・ストラッセ  
112-132

(74)代理人 弁理士 青山 葆 (外1名)

審判の合議体

審判長 吉村 宗治

審判官 竹内 浩二

審判官 渡辺 弘昭

審判官 山田 充

審判官 佐伯 義文

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 完全血液を分析する方法

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】完全血液から血漿又は血清を分離し、引続き分析する方法で完全血液を分析する場合に、血液を、ゆつくり平均直径0.2～5 $\mu$ m及び密度0.1～0.5g/cm<sup>3</sup>のガラス繊維製の層を通して滲み出させ、分離された血漿又は血清を取得し、この際、分離すべき血漿又は血清の量を、ガラス繊維層の吸引量の最高50%になるようにし、引続き流出する血漿を診断材中に導入することを特徴とする、完全血液を分析する方法。

【請求項2】診断材は、担持材上に固定された反応層を包含し、ガラス繊維層は同じ担持材と結合されている、特許請求の範囲第1項記載の方法。

【請求項3】反応層は、ガラス繊維層の一部分領域でこれと接触しており、血液を他の部分領域上に施与する、特許請求の範囲第2項記載の方法。

2

【請求項4】反応層はガラス繊維層の第1部分領域上に取付けられており、血液を第2部分領域上に施与し、反応層を、これが分離された血漿で充たされたら、押圧により、第1部分領域と接触させる、特許請求の範囲第2項記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

臨床化学において、血液からの血清又は血漿を分離することは、実際にこれら2成分のみから溶解血液成分の分析が申し分なく実施できるので、非常に重要である。

赤血球から血清又は血漿を分離する通常のかつ慣用の形は遠心分離である。しかしながら、これは殊に僅かな試料量の使用の際には問題であり、上澄み及び血べいの分離もあまり簡単ではなく、従つて、そのための一連の補助手段が文献に記載されている〔例えば西ドイツ特許出願公告第2559242号明細書参照〕。

迅速診断の際の血液の使用は特に重要である。迅速診断材は、試薬を含有する吸着可能な又は膨潤可能な担持材、有利に濾紙製の担持材であり、この上に例えば少量の被検液体を滴下し、この際非常に短い反応時間に基づき、肉眼で評価されるか又は反射測光法で測定される変色が現われる。血液のような濁つて、着色している溶液は読み取りを妨げるから、完全血液の直接使用のための迅速診断材を入手する試みがなされている。この場合、例えば試験紙の半透膜での被覆（米国特許第3092465号明細書）及び水で膨潤するフィルム（この中には血液の溶解成分のみが侵入し、赤血球は侵入できない）の使用（西ドイツ特許出願公告第1598513号明細書参照）が挙げられている。これらの方法は、もちろん、血液の低分子量成分例えばグルコース又は尿素の試験の際にのみ使用でき、血液の高分子量成分例えば脂質又は血清蛋白に結合している基質例えばビリルビンの試験の際にはこの方法では測定できない。それというのも、これらは膜にするか又は半透膜を透過させることはできないからである。更に血液細胞分離用の診断材に濾過膜を被覆する提案も公知である（西ドイツ特許出願公告第2222951号明細書及び西ドイツ特許出願公開第2922958号明細書参照）。これら診断材の欠点は、濾過膜を通つて血液を非常にゆつくり、かつ少量だけ透過することができるにすぎないことである。それというのも、これは容易に目づまりし、相応して反応は長時間かかるからである。既に市販されている前記の診断材とは反対に、最後に記載の種類の迅速テストは、従つてなお市販されていない。

更に、西ドイツ特許出願公開第2908721号及び同第2908722号明細書からは、血液を平均繊維直径5~20μもしくは3~10μを有するプラスチック繊維製の層で濾過する際に、血液からリンパ球もしくは白血球を分離できることが公知である。しかしながら、赤血球は主として血漿と一緒にフィルターを透過するので、このフィルターは血漿を得るためには不適當である。純粋な思弁的に、それより優れて炭素繊維、ガラス繊維及び金属繊維が挙げられる。

従つて、本発明の課題は、遠心分離することなしに迅速かつ確実に少量の血液を分離しかつ殊に診断の目的の試料調製として好適な、完全血液から血漿又は血清を分離する方法で血液を分析するための簡単な器具をみつけることであつた。

ところで、血液をガラス繊維単独又は他の繊維と混合した堆積物を通して流過させる際に、迅速かつ簡単に、満足しうる量で、完全血液から血漿もしくは血清を分離することが判明した。この事実は、前記西ドイツ特許出願公告第2222951号明細書に白色血液成分の分離のためにガラス繊維マツトを使用することが記載されているが白血球の分離のためには、付加的な濾膜の使用が必ず必要とされることから、一層意想外であることが判

明した。

本発明は次の特徴を有する。

ガラス繊維はゆるく堆積されていてよく、紙、フリース又はフェルトの形であるが、所望の他の外形に保持されて使用することもできる。

このように形成されたガラス繊維は、前記の迅速診断材の被覆として、その使用のために従来、血清又は血漿を予め得る必要があつたこの診断材が現在は完全血液の直接使用のために好適であるようにするために、使用することができる。

更に、ガラス繊維の充填されたカラム、濾過器又は他の好適な容器もこのために使用することができ、血液を単に流過させることにより遠心分離することなしに血清又は血漿を得ることができ、これらは適当な方法で診断器具に用意することができる。それというのも、血清もしくは血漿は、赤血球及び白血球よりは迅速にそのような層を通過するからである。

前記のガラス繊維は種々の直径の繊維から成つていてよい。このガラス材料は、アルカリ含有又はアルカリ不含のホウ珪酸ガラス又は純粋な石英ガラスから成つていてよい。他の工業用ガラス例えばホウ素不含のアルカリガラス、クリスタルガラス、鉛ガラス等によりなる繊維材料は、繊維の必要寸法では入手されず、従つて試験できなかった。しかしながら、これから出発してもこれらは好適である。ガラス繊維の平均直径は0.2μ~約5μ有利に0.5μ~2.5μ殊に0.5~1.5μである。繊維直径は、製造に応じて、著しく分布できるが、約10μの上限を越えるのは例外的である。長さは、堆積の方法によつてのみ限定されているが、その他は影響しない。堆積の方法に応じて、0.1~0.5g/cm<sup>3</sup>通例0.2~0.4g/cm<sup>3</sup>の密度が認められる。

更に、ガラス繊維は、相互に又は他の材料製の繊維と混合することができ、これにより繊維の内部結合を改良することができる。例えば合成繊維例えばポリエステル、ポリアミド等も、ポリエチレン、ポリプロピレン及び他の熱により後に成形可能なプラスチック製の繊維も好適である。添加物は、本発明による細いガラス繊維による分離に影響を及ぼす程多量でなければ、大きい直径（10~20μ）を有していてよい。

更に、ガラス繊維は、無機結合剤（例えば水ガラス）又は有機結合剤（例えばポリ酢酸ビニル、ポリプロピオン酸ビニル、ポリアクリル酸エステル等）の添加により固化することができ、これらにより、ガラス繊維は接触位置に接着することができる。

特に、本発明によるガラス繊維層と診断剤との組合せは有利であり、これも同様に本発明の目的である。

ガラス繊維は、この診断剤中で、赤血球の溶血を阻止する試薬、凝固を抑制又は促進する試薬並びに指示層中で必要であるがその試薬とは非相容性である試薬を含有していてもよい。これらの最後の試薬は、もちろんガラ

ス繊維と指示薬層との間にあるすべての層中にも入れることができる。

このような本発明によれる診断器具の構造を第1図で説明する。かたいベース材2上に、迅速診断材の反応層1が付着されている。この反応層に密接して、液体透過性の、織られたか又はフェルト加工されたプラスチック系製のネットよりなる薄い分離層4が施こされており、これは反応層の両側で容易に引きはなすことができるようにし、ベース材の長手部分に把み易いグリップ4aを残すように接着されている。次にこの反応層の上に、ガラス繊維紙3が施こされている。これは、もう1枚のネット5で、このネットが分離層4と同様に反応層の上と下に付着するような位置に固定されている。

反応層1は、含浸された吸着性担持材又は膨潤可能な又は多孔性のプラスチック膜よりなつていてよい。ベース材2としては、有利に、厚いプラスチックシート、堅い厚紙、ガラスプレート又は他の安定な担持材を使用する。

血液滴8をこの迅速診断材の上に施こした後に、ガラス繊維紙中で血漿は、赤血球及び白血球から分離される。こうして分離された血漿は、分離層4を経て診断剤の反応帯域1に入る。血漿が反応帯域に侵入する特定時間の後に、分離層をその解放端で把み、ガラス繊維紙及びネット5と共に引き離す。引続き、検出反応を行なう反応層を、肉眼で又は反射測光法で評価することができる。本発明の迅速診断材のもう1つの可能な構造を第2図に示すが、この際は、前記構造に付加的に、すべての種類の液体を透過させる1以上の層6を、これらがガラス繊維紙の上(第2a図)又は下(第2b図)に存在するように施こす。これらの付加的層は、易溶性で血漿と共に反応帯域に達するか又は難溶性で検出反応の1以上の前工程を最終的反應帯域1の外に流出させる試薬で含浸されていてよい。

第3図には、本発明の迅速診断材のもう1つの構造(第3a図は側面図、第3b図は平面図である)が記載されており、ここではガラス繊維紙3が直接、ベース材2上に接着されている。ガラス繊維紙の1部分の上に反応層1が施こされている。ガラス繊維紙の解放部分の上に血液8を施こす。ガラス繊維紙中で赤血球から分離された血漿は、ガラス繊維紙中で反応層まで拡散し、この中に入る。反応時に生じる反応色は、この迅速診断材の上面から観察できかつ評価できる。反応層は、ガラス繊維紙上に直接、圧着するか又は被覆することにより施こすることができる。しかしながら、これは完全に又は部分的に含浸された吸着性担持材の形でガラス繊維紙上に接着させることもできる。

更に、第4図及び第5図に記載のように、本発明による診断材は次のように構成されていてもよい:ベース材2の上にまず吸着性材料例えばセルロース紙又はプラスチックフリースを、かつこの材料の上にガラス繊維紙3及

び反応層1が接着されている。この場合、吸着性材料9は反応層と同じ面を占めていてよい(第5図)か、又は材料9が1面を解放しているような大きい面を占めていてよい(第4図)。血液を吸着性材料の解放面(第4図)の上に又は、直接吸着性材料(第5図)の隣りに滴下し、ここから迅速に吸収させ、ガラス繊維紙に吸引させる。引続き、ガラス繊維紙の吸収性により血液を上方にガラス繊維紙に吸引させると、この際赤血球の分離が行なわれ、血漿は反応層1に達する。反応を第3図におけると同様に迅速診断材の上から観察する。

第6図は、完全血液の直接使用に好適な迅速診断材のもう1つの構造を示している。これは、堅いベース材2の上に、隣接して吸着性層9(これは例えばセルロース紙又はセルロース含有プラスチック繊維フリースより成る)及びガラス繊維層3が施こされているように構成されている。これら2層は緊密に接触すべきである。吸着性の層9の表面に、迅速診断材に必要な検出試薬が存在し、これは、例えば、西ドイツ国特許出願公開第2910134号明細書に記載のような解放性フィルムの被覆を通して施こされていてよい。

ガラス繊維層の反応層からはなれた側の上に血液滴を施こす際に、まず血漿がその分離位置の前線で吸着性の層9に達し、直ちにこれにより吸引されるように血漿-赤血球分離が行なわれる。毛細管現象により血漿は反応管1に入り、ここで検出反応は例えば上から見える変色により認知できる。

更に、本発明による診断材は、第7図に記載の形で製造できる。この場合、ガラス繊維紙3をベース材上に接着させる。ベースは接触個所に1個以上の孔11を有する。他の側の上に反応層1を直接又は接着によりガラス繊維紙上に施こすことができる。血液8は、孔(又は複数の孔)を通つてガラス繊維紙3上に達するように診断材上に施こす。ガラス繊維紙中で分離された血漿は、反応層1上に当たり、眼で又は反射測光法でその表面で測定可能な反応を生じる。この場合、反応層は透視性の被覆層7により保護されている。

反応層1は例えばガラス繊維マット上に圧着した層よりなつていてよいが、これは、多層の素子から成つていてもよく、この際、層は種々の試薬を含有してよく、かつ/又は種々の機能を満たしてよい(例えば西ドイツ特許出願公開2922958号明細書参照)。

第8a図は本発明によるもう1つの診断材の断面図であり、第8b図は、その平面図であり、ここで、ガラス繊維よりなる層3並びに反応に必要な層6は予め固定された型12により一緒に保持されている。ここで、血液をガラス繊維フィルター側の側に滴下する。分離された血漿は引き続き反応層1に達し、この際指示反応は、ガラス繊維フィルターと反対側で肉眼で又は反射測定法で評価される。

製図技術的理由から、部分的に中間空間を有する種々の

層をいくつかの図面で示す。実際の実地の際に液体が支障なく移行することができるように層は上下に重なって存在する。更に、反応層1及び6をこれが多数の上下に重ねられた層より成つていてよいことを示すために横線が入れられている。

第3a図、第3b図、第4図及び第6図による診断材を用いる血液分離は、ガラス繊維3上に反応層1の隣り又は反応層1中に疎水性バリア15（これは部分的にガラス繊維3の容量中に入り込んでいる）を施すことにより著しく改良することができる。第3c図、第3d図、第6a図及び第6b図は、このバリア15を示しており、他の構造は、第3図、第4図及び第6図の構造に相当する。このバリア15は、ガラス繊維の表面で血液8が差当たり拡散して、指示薬領域を不純化するのを阻止するだけでなく、ガラス繊維の分離作用を決定的に改良もする。従つて、著しく少量の血液を必要とする結果を有する比較的小さいガラス繊維紙3を用いて操作することができる。このバリアは慣用方法で、例えばノズルから又はふるいを用いて施すことができる。バリア用の疎水性材料は、例えば融解接着剤又は慣用の溶剤接着剤又はワックスであつてよい。

更に、第9図には、血漿を完全血液の赤血球から、遠心分離せずに分離し、診断の目的に供給する本発明による実施形の構造が記載されている。このために、例えば図に記載の形を有する管又は容器13に前記のガラス繊維14を充填する。血液8を上から容器中に入れる。次いで下向きの道からガラス繊維を通つて血漿が血液の赤血球から分離される。容器の下部に集まる血漿は、例えばエンドツーエンド（end-to-end）毛細管により吸収するか又は吸引し、直接、他の診断法に供することができる。

もう1つの他の本発明の構造を第10図に記載するが、ここでは赤血球の分離のために好適な容器13は、これは、下部にガラス繊維14が密に充填されているピストンポンプの形を有してよい。血液8を上から解放されているこの容器中に入れる。赤血球及び白血球の分離を行なつた後に（この際血漿は容器の下部に集まる）、ピストン17を挿入し、かつ注意深く圧搾することにより、まず血漿を射出部から圧出させることができる。

血漿を得るための本発明の方法は、第11図に示すように、容器13を用いても実施でき、この容器は、1方向に透過させる弁16により2分されていて、前記ガラス繊維が充填されている。血液8を上からこの容器内に充填する。血漿は、赤血球の分離の後に容器の下に集まり、容器の下部の圧搾により取り出すことができる。この場合、弁16は、血漿が血液細胞を含有する上部に逆流することを阻止する。

更に、本発明方法は、第1図に記載の装置を用いて実施でき、この際、ベース材2上に接着された反応層1は所定の吸着性材料より成り、血液を施与する際に所定の血

漿量が層1に達する。層3、4及び5の分離の後に、血漿を、例えば分析すべき物質を溶剤で溶離させることができる。

血漿の溶出及び分析は、直ちに、但し、分析すべき物質に応じて、後に、他の場所で実施することができる。分析を後に行なうべき場合は、血漿をまず例えば温空气中で又は凍結乾燥により乾燥させるのが有利である。更に、試料施与の部位からはなれて、試薬を含有する1以上の範囲を予め用意して溶剤での溶離の際に全反応混合物を同時に溶離させることができる。

反応色が肉眼だけでは評価できなく、反射測光法で測定すべき場合は、反応層1を、測定器具の汚れをさけるために、被覆層7で覆うのが有利である。反応層1が西ドイツ特許出願公開第2910134号又は同第1598155号明細書によるフィルムである場合は、これを直接被覆層7上に積層し、次いで、双方を一緒に取付けるのが有利である。可能な実施形を第3図eに示す。もちろん、被覆層7は第7a図に示すような他の実施形で、他は第7図に相当するような実施形でも使用可能である。

更に、反応層1が、差当たりガラス繊維3もしくは吸着性層9と導液性に接触せず、前記層が、完全に血漿もしくは血清で満たされる際にはじめて接触するような構成を選択するのが有利であることが立証された。この構成の利点は、血漿もしくは血清を反応層1と予め決定できる正確な時点で接触させることができることである。更に、全面上でこれらの接触を行なうと、前記の装置で場合によつて表れるようなクロマトグラフィ効果は排除された。血液8の供与と反応層1中での反応の開始の間に予め決定可能な時間を置くことができる事実は、特別に調節可能な条件で進行すべき反応の際に特に重要である。例えば、特別な一定温度で進行すべき酵素の測定の際には、診断材を十分に一定の温度にされている際に、反応がはじめて開始される。同様に、血漿が集まる3及び9の帯域で、被検物質に時間に関連する反応で一定状態にする即ち予備反応を進行させる試薬を中断することができる。この1例はクレアチンキナーゼをN-アセチルシステインで活性化することである。

第12図は、第13図及び第14図には、種々の可能な構造が記載されており、ここで第13図では、疎水性バリア15が同時に層1及び7の固定部として役立っている。残りの層の記号及び構成は第3図～第6図に示したものと同一である。

第14図で疎水性ネット18が反応層1とガラス繊維3もしくは吸着層9との間に記載されている。この疎水性ネットは、構成成分を不所望の軽い接触から保護し、液接触を強力な圧搾の際にはじめて現われさせる。このことは、改良された実施性に寄与している。

もちろん、反応層1は2以上の種々異なる帯域より成つていてよい。これらは、処方を選択する際に、種

々の濃度範囲の同物質又は異なる物質を検出することができる。更に、同時に種々異なる反応層が滴下位置から出る血漿で濡らされる構成も考えられる。ここで長い、円形及び類似の種々の形が考えられる。

第15a図～第17b図に、第1a図～第1d図とは種々の試験区域で異なっていて、残りの記号は前記図面のものと同じ、可能な構成が示されている。

血液分離は、ガラス繊維3上に血液滴下個所にもう1個のガラス繊維区域3aが施こされる際に、同様に改良することができる。この場合、3a及び3は同じ材料より成つていてよいが、3aには他の厚さのもしくは他の繊維直径を有する材料を選択することができる。第18図及び第19図には、残りが第3図及び第12図に相当する可能な構成が示されている。

次に実施例につき本発明を詳説する。

#### 例1

コレステリン試験片

メチルヒドロキシプロピル

セルロース (Culminal

MHPC 8000) 7.117g

二酸化チタン 7.000g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.138g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>・H<sub>2</sub>O 0.479g

コレステリンエステラーゼ 3400u

コレステリンオキシダーゼ 5000u

ペルオキシダーゼ 7×10<sup>4</sup>u

ジオクチルスルホコハク酸

ナトリウム 0.476g

を水70ml中に溶かす。次いで、順次に、

セルロース 14.0g

ポリプロピオン酸ビニルー

分散液 8.4g

を均一に混入する。最後に、

アセトン1.6ml中に溶かした3,3', 5,5' -テトラメチルベンジン0.66gを加える。

このバッチを約300μの厚さで平らなプラスチックシート上に被覆し、60～70℃で乾燥の後に幅6mmの片に切断する。この片に引続きナイロン製の60μ厚さのネット及び同様に幅6mmに切断したガラス繊維紙 (Sc \*

\*h l e i c h e r & S c h ü l l のガラス繊維フィルターNo. 3362、紙の厚さ0.47mm、密度0.27g/cm<sup>3</sup>、平均繊維直径約2.5μ)と共にポリエステルシート上に接着させる。引続き、これを幅6mmの片に切断する。

この試験片の上面に血液40μlを塗布し、1分後に残りの血液を有するガラス繊維紙をネットと一緒にひきはがしにより除き、次いで、3分以内に試験区域上に血液の代りに、同じ血液の遠心分離された血漿を塗布する際に得られると同じ反応色が生じる。

#### 例2

コレステリンテスト

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.45g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>・H<sub>2</sub>O 1.55g

コレステリンエステラーゼ 1.5×10<sup>4</sup>μ

コレステリンオキシダーゼ 1×10<sup>4</sup>μ

ペルオキシダーゼ 3×10<sup>5</sup>μ

ジオクチルスルホコハク酸

ナトリウム 2.0g

20 アルギン酸ナトリウム (アルギボン) 6.9g

を水250ml中に溶かし、なおアセトン15ml中に溶かした3, 3', 5, 5' -テトラメチルベンジン2.0gをこれに加える。引続き珪そう土20.0gを均質に分配させる。この反応物質を幅6mmの中でスクリーン印刷機 (目: 190μ) を用いて、ガラス繊維紙 (例えばガラス繊維フィルターNo. 85/90Machery, Nagel & Co) 上に、例1に記載の形で施こす。圧縮したガラス繊維紙60～80℃で乾燥させ、幅12mmの片に切断して、圧縮した反応帯域は片の半分を形成している。この片をポリエステルシートの端部に接着し、これをガラス繊維紙に対して横に幅6mmの片に切断する。被覆されていないガラス繊維紙の試薬層からはなれた縁部に血液40μlを滴下し、血漿を反応帯域の下に滲出させる。これは血液のコレステリン濃度との関係で、種々異なる強さの青色反応色に染まる。反応色の強度は、血液の代りに同じ血液から得られる血清又は血漿で斑点をつける際に得られるものに相応する。同様に、次の第1表に記載の紙も使用できる。

第 1 表  
血漿分離のためのガラス繊維紙

製造者	型	繊維直径(μ)	繊維平均直径(μ)	面重量(g/m <sup>2</sup> )	厚さ(μm)	密度(g/cm <sup>3</sup> )
Machery&Nagel	85/90BF	2～9	3.2	87	350	0.249
Nuclepore	p300	1～3	1.5	25	89	0.275
Schleicher&Schüll	Na9	3～4	3.4	67	269	0.247
Schleicher&Schüll	3362	1～7	2.5	127	472	0.269

#### 例3

コレステリンテスト

セルロースM+NAC10 16.0g

50 メチルヒドロキシプロピル

11

セルロースの0.2%溶液

(culminal MHPC 8000) 86.0 g

湿潤剤 (Marlon) 0.32 g

湿潤剤 (Na-ジオクチルス

ルホサクシネート) 0.68 g

ポリビニルプロピオネート

一分散液 (propiofan 70D) 12.0 g

テトラメチルベンジジン 0.48 g

二酸化チタン 10.0 g

コレステリンエステラーゼ 9600 u

コレステリンオキシダーゼ 7200 u

ペルオキシダーゼ  $1.04 \times 10^4$  u

没食子酸 0.01 g

よりなる試薬物質を、疎水性ポリエステルフリース (Dupont社のReemay 2033) 上に0.2mmの厚さで被覆し、60℃で乾燥させる。引き続きこの被覆の幅6mmの片及びガラス繊維フィルター (例えばSchleicher SchüllのFilter 3362) の幅12mmの片を堅いプラスチック片上に隣接して接着させて、ガラ \*

12

\*ス繊維フィルターが非常に緊密に被覆フリースに突き当たるようにする。このプラスチック片から横に幅6mmの片を切断する際に試験片が得られ、これで、完全血液約50  $\mu$  lを試薬フリースからはなれたガラス繊維フィルター側で滴下した後に、短時間後に、純粋な血漿だけが試薬フリース中に到達し、その強度が血液中のコレステリンの濃度に応じて増加する青い反応色を示す。

例4

分離された血漿の取得

10 下法に向つて円錐形に細くなっているプラスチック容器 (ピストン行程ピペットのプラスチック先端、長さ5cm、厚さ0.5cm) に次の第2表に記載のガラス繊維を弛るく充填し、この際、嵩密度0.1~0.4 g/cm<sup>3</sup>が得られる。上の解放端部に血液を充填し、血清を容器先端まで滲出させた。ここから、エンドーツウーエンド毛細管をピペット先端開口部に近づけることにより内容15  $\mu$  lを充填することができる。こうして得た血漿は直接、任意の分析法に導びくことができる。

## 第 2 表

例4の試験構造での種々の

ガラス繊維の分離能の試験

ガラス繊維：特性、分離能赤血球/血漿

ジョン・マンビレUSA	VEBトリソラDOR	直径		繊維の長さ ( $\mu$ m)	表面積 ( $m^2/g$ )	分離能 赤血球/血漿
		範囲	平均			
100		0.2-0.29	0.25	300	5.1	+
102		0.3-0.33	0.32		4.5	+
104		0.34-0.48	0.4	800	3.12	+
106		0.49-0.58	0.54	1000	2.6	++
	U60	0.51-0.64	0.58		—	++
108A		0.59-0.88	0.74	1200	1.72	++
	U70	0.65-0.76	0.71			++
	U80	0.77-0.93	0.85			++
	U90	0.94-1.19	1.07			++
	U100	1.2-1.44	1.32			++
108B		0.89-2.16	1.53		0.71	++
	U156	1.45-2.49	1.97		—	+
110		2.17-3.10	2.6		0.49	—
112		2.6-3.8	3.2	1900	0.40	—
	F	2.5-4.0	3.3			—

+ 十分 ++ 良好 +++ 非常に良好 — 負

⊗ 繊維の80%がこの範囲にある。

例5

疎水性バリアの作用効果

疎水性バリア15の作用効果を明確にするため、第14図に記載の器具を使用した。これは幅6mm、厚さ0.3mmの透視可能なポリカーボネート担持シート2、厚さ0.09mmのガラス繊維紙製の9×6mmの大きさの吸着層9、厚さ0.075mmの疎水性ナイロンネット18より成り、透視可能な被覆シート7で被覆されている。層9を有する吸着

性接触でガラス繊維紙5を幅6mm及び次表に示す長さを有するガラス繊維紙 (Schleicher Schüll No. 3362 厚さ0.47mm) よりなる担持材上に固定させる。この装置の各半分は層3、9及び18の間の接触個所で、パラフィンワックス製の幅約2mm厚さ0.1mmのバリア15を備えている。

血漿の取得の調査のために、ガラス繊維紙3の中央に、次の第3表に記載の血液量を施し、30秒後に吸着性

14

第1図、第2a図、第2b図、第3a図、第3c図、第3e図、第4図、第5図、第6図、第6a図及び第6b図はそれぞれ本発明の器具の実施形を示す断面図であり、第3b図は第3a図の平面図であり、第3d図は第3c図の平面図であり、第7図及び第7a図は、本発明の器具のもう1つの実施形を示す断面図であり、第8a図は、更に本発明の器具のもう1つの実施形を示す断面図であり、第8b図は第8a図の平面図であり、第9図、第10図及び第11図は更に本発明の実施形を示す図であり、第12図、第13図、第14図及び第15a図、第16a図、第17a図、第18図及び第19図の各々は更に本発明の実施形を示す断面図であり、第15b図は第15a図の平面図であり、第16b図は第16a図の平面図であり、第17b図は第17a図の平面図である。

第 3 表

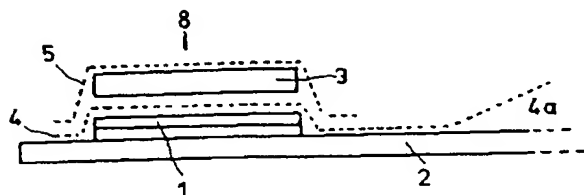
ガラス 繊維フ リース の寸法	点置さ れた血 液量 ( $\mu\ell$ )	疎水性バリアを 有する層9の湿 潤率(%)		疎水性バリアを 有しない層の湿 潤率(%)	
		$\frac{\text{血漿}}{X_n=5}$	$\frac{\text{血液}}{X_n=5}$	$\frac{\text{血漿}}{X_n=5}$	$\frac{\text{血液}}{X_n=5}$
6×6mm	25	88	0	77	12
	30	97	0	72	22
	35	99	0	83	18
7×6mm	29	86	0	82	3
	35	100	0	87	21
	41	100	0	97	31
8×6mm	33	96	0	79	0
	40	100	0	92	0
	47	100	0	100	13

10 図であり、第12図、第13図、第14図及び第15a図、第16a図、第17a図、第18図及び第19図の各々は更に本発明の実施形を示す断面図であり、第15b図は第15a図の平面図であり、第16b図は第16a図の平面図であり、第17b図は第17a図の平面図である。

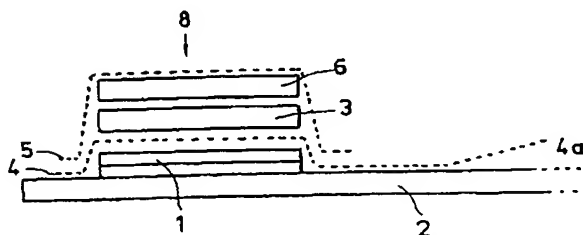
1……反応層、2……ベース材、3……ガラス繊維層、4……分離層、5……ネット、6……液体透過層、7……透視性被覆層、8……血液、9……吸着性層、11……孔、13……容器、14……ガラス繊維、15……疎水性バリア、16……弁、17……ピストン、18……疎水性ネット

【図面の簡単な説明】

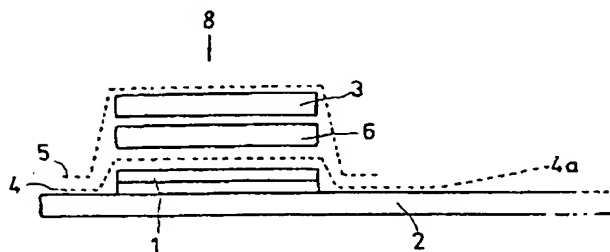
【第1図】



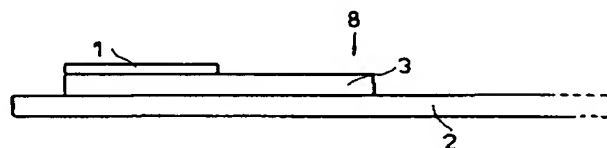
【第2 a 図】



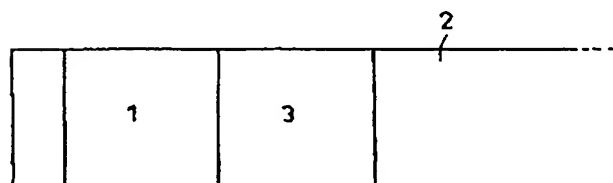
【第2 b 図】



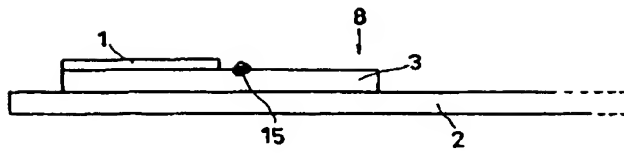
【第3 a 図】



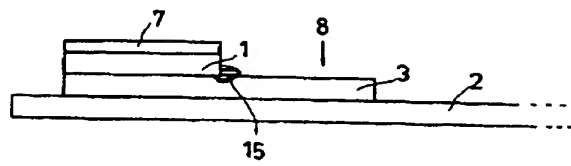
【第3 b 図】



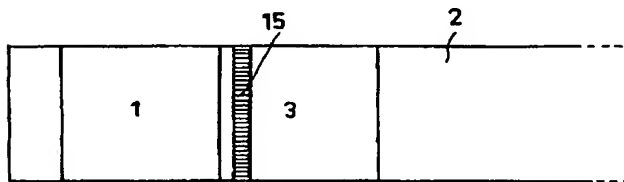
【第3 c 図】



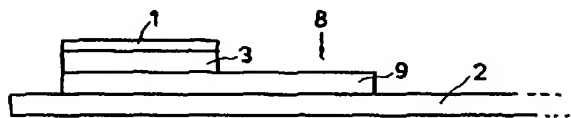
【第3 e 図】



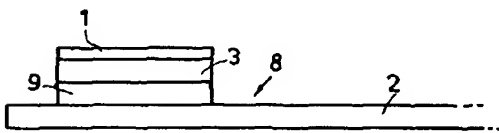
【第3 d 図】



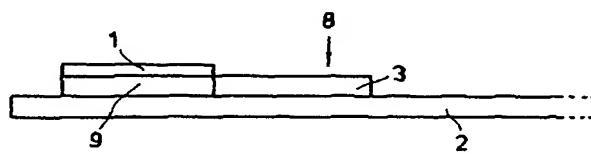
【第4 図】



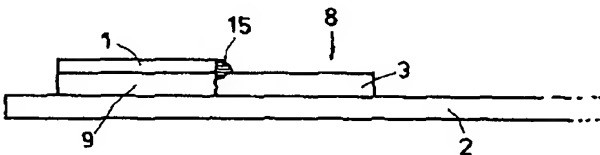
【第5 図】



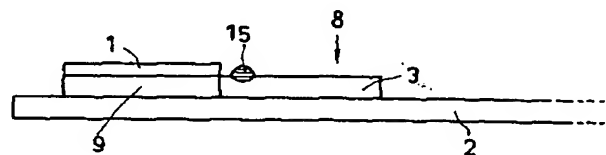
【第6 図】



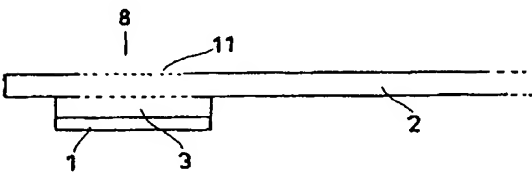
【第6 a 図】



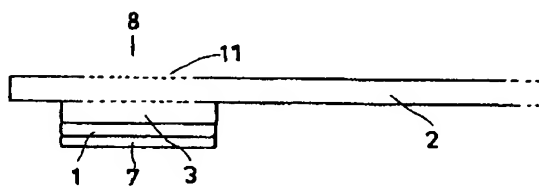
【第6 b 図】



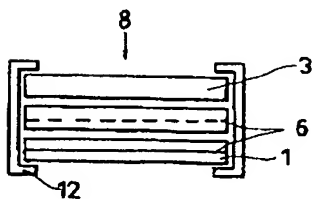
【第7 図】



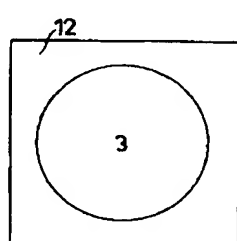
【第7 a 図】



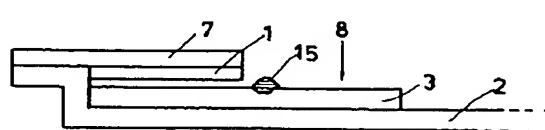
【第8 a 図】



【第8 b 図】

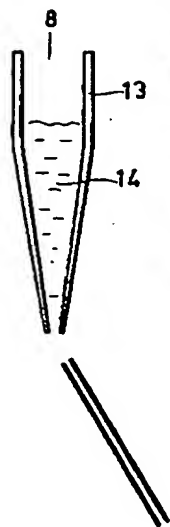


【第12 図】

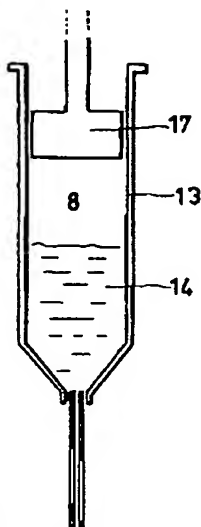




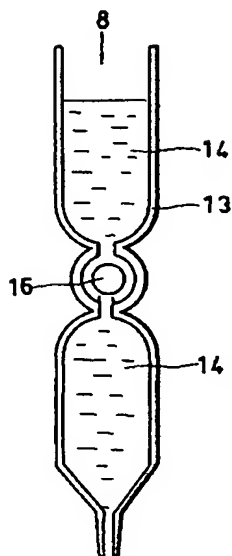
【第9図】



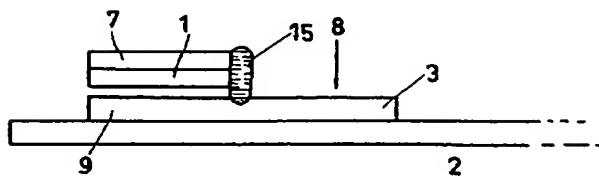
【第10図】



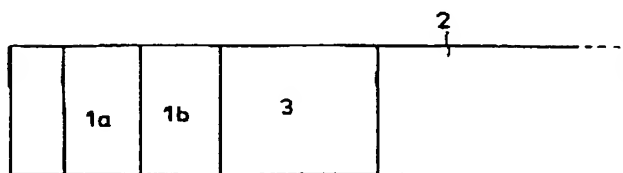
【第11図】



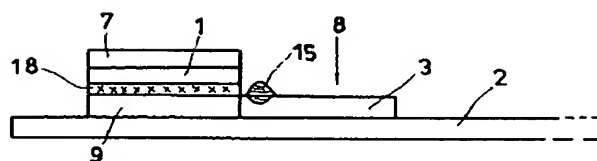
【第13図】



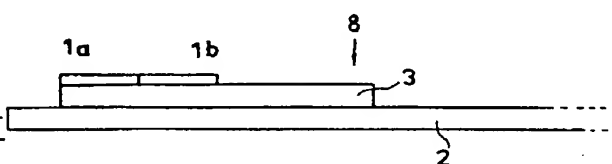
【第15b図】



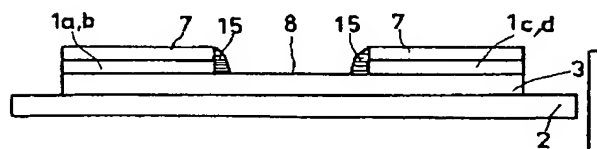
【第14図】



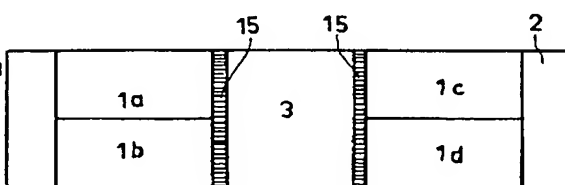
【第15a図】



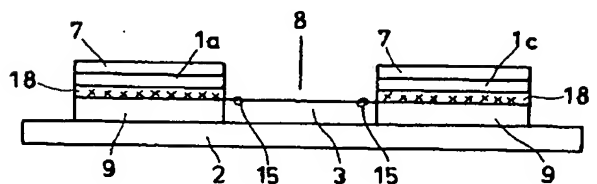
【第16a図】



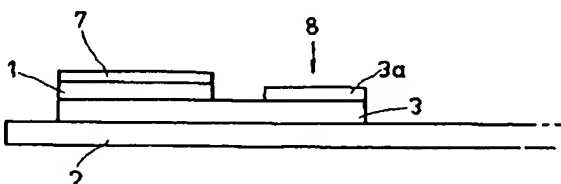
【第16b図】



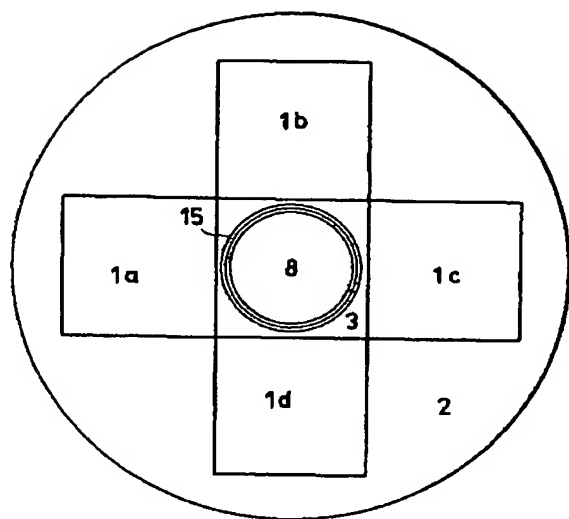
【第17a図】



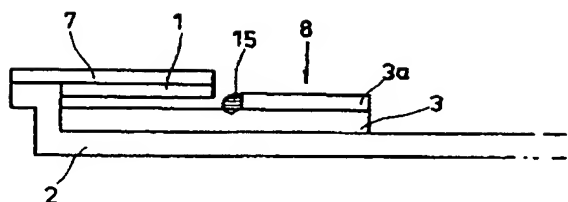
【第18図】



【第17b図】



【第19図】



フロントページの続き

(72)発明者 ベーター・フォーゲル  
ドイツ連邦共和国ヘムスバッツハ・シユーベ  
ルトヴェーク5  
(72)発明者 ハンス・ペーター・ブラウン  
ドイツ連邦共和国ヘムスバッツハ・アウフ・  
デア・アウ3

(72)発明者 デイーター・ベルガー  
ドイツ連邦共和国フイールンハイム・ベン  
スハイマー・シュトラッセ45  
(72)発明者 ヴォルフガング・ヴェルナー  
ドイツ連邦共和国マンハイム31マイセナ  
ー・ヴェーク39

【公報種別】特許法（平成6年法律第116号による改正前。）第64条の規定による補正

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】平成9年（1997）10月22日

【公告番号】特公平6-64054

【公告日】平成6年（1994）8月22日

【年通号数】特許公報6-1602

【出願番号】特願昭56-121959

【特許番号】2107047

【国際特許分類第6版】

G01N 33/49

Z 276-2J

【手続補正書】

1 「特許請求の範囲」の項を「1 完全血液から血漿又は血清を分離し、引続き分析する方法で完全血液を分析する場合に、血液をゆっくり平均直径0.2～5 $\mu$ mを有するガラス繊維の、密度0.1～0.5g/cm<sup>3</sup>の層を通して滲み出させ、分離された血漿又は血清を取得し、この際、分離すべき血漿又は血清の量を、ガラス繊維層の吸引量の最高50%になるようにし、引続き流出する血漿又は血清を診断材中に導入することを特徴とする完全血液を分析する方法。

2 診断材が、担持材上に固定された反応層を包含し、ガラス繊維層は同じ担持材と結合されている特許請求の範囲第1項記載の方法。

3 反応層が、ガラス繊維層の一部分領域でこれと接触しており、血液を他の部分領域上に施与する特許請求の範囲第2項記載の方法。

4 反応層がガラス繊維層の第1部分領域上に取付けられており、血液を第2部分領域上に施与し、反応層を、これが分離された血漿又は血清で充たされたら、押圧により、第1部分領域と接触させる特許請求の範囲第2項

記載の方法。」と補正する。

2 第3欄39～41行「診断の目的の……ための簡単な器具」を「診断のための試料調製に好適な、完全血液から血漿又は血清を分離する簡便な方法」と補正する。

3 第5欄3行「によれる」を「の方法で用いる」と補正する。

4 第5欄26行及び第5欄34行「本発明の」を「本発明の方法で用いる」と補正する。

5 第5欄47行、第6欄27行及び第6欄42行「による」を「の方法で用いる」と補正する。

6 第7欄32行「本発明の」の次に「方法で用いる」を挿入する。

7 第9欄5～6行「第1a図～……異なっていて」を「1a～1dで示される種々の試験区域で異なっているが」と補正する。

8 第14欄3行「本発明の」の次に「方法で用いる」を挿入する。

9 第14欄6行、7行、9行、12行「本発明の」の次に「方法で用いる」を挿入する。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**